



بررسی نقش القایی ترهالوز در اتوفاژی در بیماری پارکینسون مدل ۶-هیدروکسی دوپامین موش صحرایی نژاد ویستار

Evaluation of the effects of Trehalose and related autophagy signaling pathway in wistar rats model of ۶-OHDA Parkinson disease



علوم پزشکی
قزوین



منابع



اطلاعات
تفضیلی



مجری و
همکاران



صفحه نخست
سامانه

چاپ
صفحه

مجریان:

کلمات کلیدی: بیماری پارکینسون، ترهالوز، اتوفاژی



اطلاعات کلی طرح

کد طرح	۱۴۰۰۲۲۰۳
عنوان فارسی طرح	بررسی نقش القایی ترهالوز در اتوفاژی در بیماری پارکینسون مدل ۶-هیدروکسی دوپامین موش صحرایی نژاد ویستار
عنوان لاتین طرح	Evaluation of the effects of Trehalose and related autophagy signaling pathway in wistar rats model of ۶-OHDA Parkinson disease
کلمات کلیدی	بیماری پارکینسون، ترهالوز، اتوفاژی
نوع طرح	
نوع مطالعه	
مدت اجراء - روز	۳۶۵

ضرورت انجام تحقیق

بیماری پارکینسون یک بیماری نورودژنراتیو است که در آن حرکات بدن نامنظم و آرام می شود و با فقدان نورونهای دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه و تجمع پروتئین در سیتوپلاسم نورونهای مربوطه مشخص می شود. از جمله علل پارکینسون که مربوط به استرس اکسیداتیو، اختلال عمل میتوکندری و تجمع پروتئین هستند، همگی با اتوفاژی در ارتباط اند. اتوفاژی یک فرایند هومئوستازی حفاظتی برای سلول و ضروری برای از بین بردن محتویات سیتوپلاسمی است. مطالعات نشان داده است که تنظیم دقیق اتوفاژی در سلول برای بقای نورونی ضروری و فقدان تنظیم آن منجر به تخریب نورون ها در بیماری پارکینسون می شود. می شود. ترهالوز یک دی ساکارید غیرسمی است که می توان با خیال راحت به صورت خوراکی تجویز کرد. ترهالوز توانایی جلوگیری از تخریب نورنی را در مدل های موشی مبتلا به بیماری پارکینسون دارد و مانع از شکل گیری خوشه ای سلول های اندوتلیال و سایر تغییرات عصبی-عروقی در موش ها استفاده

می‌شود. هدف این طرح بررسی نقش داروی ترهالوز در القای اتوفاژی و پیشگیری از بیماری پارکینسون در موش صحرایی می‌باشد.

هدف کلی	بررسی نقش ترهالوز و مسیر سیگنالینگ اتوفاژی مرتبط با آن در بیماری پارکینسون مدل ۶-هیدروکسی دوپامین موش صحرایی نژاد ویستار
خلاصه روش کار	موشهای صحرایی به سه گروه شم، تخریب و درمان تقسیم می‌شوند در گروهها بیماری پارکینسون ایجاد شده و در گروه درمان به وسیله ترهالوز پیش درمان صورت می‌گیرد پس از یکماه مغز موشها در آورده می‌شود و جسم سیاه از نظر بیان ژنهای موثر در مسیر اتوفاژی میزان بیان ژنهای foxora.Atg۱۰۱، Atg۱۳، ATG۱۴L، LC۳ بوسیله Real time-PCR صورت می‌گیرد.

اطلاعات مجری و همکاران

نام و نام خانوادگی	سمت در طرح	نوع همکاری	درجه تحصیلی	پست الکترونیک
فرزاد رجایی	همکار		دکترای تخصصی	farzadraj@yahoo.co.uk
علی نوری زاده	همکار			alincbc@gmail.com
حجت اله عباس زاده	همکار			hoomanabs@gmail.com

اطلاعات تفصیلی

عنوان	متن
چکیده طرح	بیماری پارکینسون یک بیماری نورودژنراتیو است که در آن حرکات بدن نامنظم و آرام می‌شود و با فقدان نورونهای دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه و تجمع پروتئین در سیتوپلاسم نورونهای مربوطه مشخص می‌شود. از جمله علل پارکینسون که مربوط به استرس اکسیداتیو، اختلال عمل میتوکندری و تجمع پروتئین هستند، همگی با اتوفاژی در ارتباط اند. اتوفاژی یک فرایند هومئوستازی حفاظتی برای سلول و ضروری برای از بین بردن محتویات سیتوپلاسمی است. مطالعات نشان داده است که تنظیم دقیق اتوفاژی در سلول برای بقای نرونی ضروری و فقدان تنظیم آن منجر به تخریب نوروها در بیماری پارکینسون می‌شود. می‌شود. ترهالوز یک دی‌ساکارید غیرسمی است که می‌توان با خیال راحت به صورت خوراکی تجویز کرد. ترهالوز توانایی جلوگیری از تخریب نرونی را در مدل‌های موشی مبتلا به بیماری پارکینسون دارد و مانع از شکل‌گیری خوشه‌های سلول‌های اندوتلیال و سایر تغییرات عصبی-عروقی در موش‌ها استفاده می‌شود. هدف این طرح بررسی نقش داروی ترهالوز در القای اتوفاژی و پیشگیری از بیماری پارکینسون در موش صحرایی می‌باشد. روش: موشهای صحرایی به سه گروه شم، تخریب و درمان تقسیم می‌شوند در گروهها بیماری پارکینسون ایجاد شده و در گروه درمان به وسیله ترهالوز پیش درمان صورت می‌گیرد پس از یکماه مغز موشها در آورده می‌شود و جسم سیاه از نظر بیان ژنهای موثر در مسیر اتوفاژی میزان بیان ژنهای foxora.Atg۱۰۱، Atg۱۳، ATG۱۴L، LC۳ بوسیله Real time-PCR صورت می‌گیرد.
پیشینه طرح	در متن طرح ذکر گردیده است
فهرست کلی فصول	در متن طرح ذکر گردیده است
هدف از اجرا	بررسی نقش ترهالوز و مسیر سیگنالینگ اتوفاژی مرتبط با آن در پیشگیری از بیماری پارکینسون مدل ۶-هیدروکسی دوپامین موش صحرایی نژاد ویستار

۱- ژن foxo3a در بیماری پارکینسون پس از استفاده از داروی ترهالوز بیان می شود. ۲- ژن LC3 در بیماری پارکینسون پس از استفاده از داروی ترهالوز بیان می شود. ۳- ژن ATG101 در بیماری پارکینسون پس از استفاده از داروی ترهالوز بیان می شود. ۴- ژن ATG14L در بیماری پارکینسون پس از استفاده از داروی ترهالوز بیان می شود. ۵- ژن ATG13 در بیماری پارکینسون پس از استفاده از داروی ترهالوز بیان می شود.

فرضیات یا سوالات پژوهشی

چه موسساتی می توانند از نتایج طرح استفاده نمایند؟	در متن طرح ذکر گردیده است
در صورت ساخت دستگاه نظر صنعت و داوران	در متن طرح ذکر گردیده است
کلید واژه های فارسی	بیماری پارکینسون، اتوفاژی، ترهالوز
روش پژوهش و تکنیک های اجرایی	<p>الف : ابزارآلات : دستگاه استریوتاکس - استوانه شیشه ای به ابعاد قطر ۳۳ سانتیمتر ، ارتفاع ۲۵سانتیمتر- دریل خصوص - سرنگ هاملتون ۵ یا ۱۰ میکرولیتری - ست جراحی - پنبه ، گاز و نخ بخیه - ذره بین - تیغ معمولی - سرنگ انسولین - تیغ میکروتوم، ترازوی دیجیتال magnet - ست پرفیوژن - لام ژلاتین -لامل-دستگاه ترموسایکلر، دستگاه ژل داک، تانک الکتروفوروز، اسپکتروفتومتر، هات پلیت، سانتیفریوژ، سمپلر و سر سمپلر. ب: مواد لازم : نوروتوکسین ۶-OHDA، آپومورفین، رنگ کریزل ویولت، سرم فیزیولوژیک، فسفات بافر ۲/۰مولار، پارافرمالید، گزلیل، الکل با درجات مختلف، کتامین، گزیلازین، هپارین، اسید استیک، بتادین، کیت استخراج RNA ، کیت سنتز CDNA ، کیت Dnase treatment، کیت PCR master mix ، water nuclease free، DEPC</p> <p>پرایمر های اختصاصی، آنتی بادی اولیه p۶۲ ، آنتی بادی ثانویه، CYBR Green، ژل آگاروز، DNA ladder، Gel red، تریتون X، FBS(Fetal bovine serum). ارزیابی رفتاری قبل از آزمایش: بررسی رفتاری توسط داروی آپومورفین هیدروکلراید(شرکت sigma) به میزان ۵/۲ mg/kg به شکل داخل صفاقی توسط سرنگ انسولین، ۱۰ دقیقه قبل از جراحی (base line) موشها در محفظه استوانه ای مدرج شفاف به نور از جنس شیشه یا پلاستیک خشک، با ابعاد قطر ۳۳ و ارتفاع ۳۵ سانتی متر نگهداری می شوند. پس از تزریق دارو تعداد چرخش کامل ۳۶۰ درجه در فواصل زمانی ۱۰ دقیقه ای به مدت ۶۰ دقیقه بصورت دستی اندازه گیری می شود. تعداد چرخش کونترول ترال (به سمت مخالف محل ضایعه به سمت راست) به عنوان عدد مثبت و چرخش ایپسی لترال (به سمت چپ یا محل ضایعه) بعنوان عدد منفی در نظر گرفته می شود. تعداد خالص چرخش پس از تفاضل چرخشها در دو جهت محاسبه می گردد. این ارزیابی رفتاری دو هفته پس از ایجاد ضایعه و قبل از بیهوش کردن حیوان جهت انجام پرفیوژن و خارج ساختن مغز برای هر موش تکرار می شود و آنالیز رفتاری پس از مصاحبه آماری بصورت رفتار چرخش القا شده بر اثر آپومورفین قبل بعد از جراحی بررسی می شود. جراحی موشها توسط تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین و گزیلازین به ترتیب ۱۰۰ و ۲۰ میلی گرم در هر کیلوگرم بیهوش شده، سپس در دستگاه استریو تاکس با مختصات تنظیم شده قرار می گیرند. مختصات دستگاه برای ایجاد ضایعه بر روی ۳ mm لترال به سمت چپ، ۵/۴ mm شکمی از سطح سخت شامه و ۲/۹ mm+ قدامی خلفی نسبت به فاصله بین دو گوش (interural) تنظیم می شود همچنین میله دندانی (۳/۳) incisor bar میلی متر زیر سطح افق قرار می گیرد. پس از فیکس کردن سر حیوان در دستگاه، با تیغ و قیچی معمولی کرکهای سر حیوان را پاک کرده تا پوست در معرض دید قرار گیرد، پس از ضد عفونی کردن محل جراحی با بتادین، بوسیله تیغ جراحی شکافی موازی با سطح ساژیتال از محل فاصله بین چشمها تا ناحیه فاصله بین گوشها ایجاد کرده و پوست سر کنار زده می شود پس از پیدا کردن</p>

مختصات، استخوان محل تزریق توسط دریل مخصوص با سرعت پایین جهت جلوگیری از آسیب به بافت مغزی سوراخ می‌شود پس از نمایان شدن سطح سخت شامه تزریق بوسیله سرنگها میلون ۵ میکرولیتری صورت می‌گیرد که ماده تزریق شده در گروههای مختلف متفاوت است: الف- در استریاتوم چپ حیوانات گروه تخریب (۵ lesion) میکرولیتر از محلول نرمال سالین ۹/۰٪ حاوی ۵/۲ میکروگرم بر میکرولیتر از نوروتوکسین ۶- هیدروکسی دوپامین هیدروکلراید تزریق می‌شود. ب- در استریاتوم چپ حیوانات گروه شاهد ۵ میکرولیتر محلول نرمال سالین ۹/۰٪ تزریق می‌شود. ج- در استریاتوم چپ حیوانات گروه درمان (۵ Treatment) میکرولیتر از محلول نرمال سالین ۹/۰٪ حاوی ۵/۲ میکروگرم بر میکرولیتر از نوروتوکسین ۶- هیدروکسی دوپامین هیدروکلراید تزریق می‌شود، البته قبل از تزریق نوروتوکسین در استریاتوم ترهالوز به شکل تزریق درون صفاقی با دوز ۲ درصد وزن بدن در سه روز متوالی قبل از جراحی روز بعد از جراحی و فواصل ۷ روزه به مدت ۳۵ روز بعد از جراحی استفاده میگردد. بیهوشی: برای تهیه داروی بیهوشی از مخلوط کتامین (۱۰۰ mg/kg) گزیلازین (۵ mg/kg) استفاده می‌شود. آپومورفین آپومورفین بصورت پودر است که آنرا در محلول نرمال سالین ۹/۰٪ با غلظت ۵/۰ mg/kg تهیه و بصورت داخل صفاقی به موشها تزریق می‌شود. آماده کردن نوروتوکسین در محیط ترجیحا تاریک یا حداقل روشنائی با نور غیر مستقیم صورت می‌گیرد. برای هر موش ۵/۲ میکروگرم بر میکرولیتر از پودر ۶-OHDA در سالین اسکوریات حل می‌شود و از آنجائیکه حجم تزریقی در استریا توم برای هر موش ۵ میکرولیتر معادل یک سرنگ هاملتون ۵ میکرولیتری است ۵/۱۲ میکروگرم از ۶-OHDA در ۵ میکرولیتر حل می‌شود. روش تزریق نوروتوکسین: به آهستگی و سرعت تزریق به داخل استریاتوم به میزان یک میکرولیتر در دقیقه است و ۵ الی ۱۰ دقیقه پس از تزریق سرنگ به آهستگی خارج می‌شود اولاً تا نوروتوکسین به آرامی جذب شود و ثانیاً از خروج ماده از استریاتوم به دنبال خارج کردن سرنگ جلوگیری شده باشد. پس از پایان تزریق محل انجام جراحی و پوست سر موش ضد عفونی و سپس بخیه می‌شود. در تمام طول جراحی چشمان حیوان توسط پارچه نمدار و خیس برای محافظت چشم حیوان از خشک شدن و آسیب پوشیده می‌شود، حیوان پس از اتمام کار به علت پائین آمدن دمای بدن در جای گرم نگهداری می‌شود و پس از به هوش آمدن به حیوانخانه منتقل می‌شوند. برای بررسی بیان ژن‌های موثر در مسیر اتوفاژی میزان بیان ژنهای LC^3 , $foxo3a$, $ATG13$, $ATG14L$, $Atg101$ بوسیله Real time-PCR صورت می‌گیرد. از ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی استفاده می‌شود. ۱. بررسی در گروه شاهد ۱) مغز سالم و دست نخورده بدون تزریق هیچ ماده ای، ۲. (group sham) بررسی در گروه تخریب (تخریب ۶-OHDA حل شده در نرمال در استریاتوم مغز، ۳ (Lesion group). بررسی در گروه درمان (treatment- group)) برای انجام Real time-PCR ژن های ذکر شده ابتدا پرایمرهای مورد نیاز توسط نرم افزار Gene Runner طراحی میگردد. در این تکنیک RNA کل از سلول های هر گروه به وسیله کیت استخراج (RNA extraction kit)، استخراج می گردد. به منظور حذف DNA ناخواسته با استفاده از کیت DNase I با amplification grade kit)) صورت می گیرد. سپس RNA با استفاده از کیت تولید (cDNA synthesis kit)) و آنزیم کپی برداری معکوس به DNA مکمل (cDNA) تبدیل می شود. سپس cDNA حاصله به روش Real time-PCR تکثیر شده، مورد بررسی قرار می گیرد

در متن طرح ذکر گردیده است

دلایل ضرورت و توجیه انجام کار

در متن طرح ذکر گردیده است

کلید واژه های فارسی بازنگری شده

فهرست منابع و مراجع علمی داخلی	در متن طرح ذکر گردیده است
فهرست منابع و مراجع علمی خارجی	در متن طرح ذکر گردیده است
خلاصه نتیجه اجرای طرح	
سابقه علمی طرح و پژوهش‌های انجام شده با ذکر مأخذ به ویژه در ایران	
خلاصه طرح طبق اهداف پیش بینی شده	
WhatRequirementsAreMet	
ملاحظات گروه	
ملاحظات ناظر	
HomeAddress	
WorkPlace	
جامعه مورد مطالعه و روش نمونه گیری	جامعه آماری رت‌های نر بالغ نژاد ویستار هستند که در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ قرار دارند. نمونه تحقیق شامل ۴۰ سر رت نر بالغ است که به صورت تصادفی در ۵ گروه تخریب کنترل، شم، پارکینسونی با پیش‌درمان ترهالوز و تقسیم شدند. به منظور انجام مطالعات رفتاری مدارنگیر و استریاتال در مدل آزمایشگاهی پارکینسون از ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (wistar rat) به وزن ۲۰۰-۳۰۰ گرم استفاده می‌گردد. حیوانات در گروه‌های ۴ تا ۶ تایی در قفس و محیط با دمای ۲۳-۲۷ درجه سانتیگراد و شرایط نور و تاریکی یکسان در ۲۴ ساعت تیمار شده و بدون محدودیت به آب و غذای مخصوص (pelted) دسترسی داشته و برای انجام آزمایشات و سازگاری با محیط یک ماه قبل به حیوانخانه منتقل می‌گردند. دسته بندی گروه ها موشهای با چرخش کمتر از ۳۰ دور ۳۶۰ درجه کامل(به دور خود)، در زمان یک ساعت پس از تجویز داخل صفاقی آپومورفین هیدرو کلراید با دوز ۰/۰ mg/kg انتخاب شده و حیوانات بصورت تصادفی به ۳ گروه ده تایی زیر دسته بندی می‌شوند: الف- شاهد ۱ (Sham group) ب- تخریب (Lesion - group) ج- درمان (treatment- group)
بیان مسأله و بررسی متون	<p>بیماری پارکینسون یک بیماری نورودژنراتیو است که در آن حرکات بدن نامنظم و آرام می‌شود و با فقدان نورونهای دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه و تجمع پروتئین در سیتوپلاسم نورونهای مربوطه مشخص می‌شود [۱-۳]. این بیماری مرتبط با علایم حرکتی مثل لرزش، سختی و کاهش حرکت و ویژگیهای غیر حرکتی شامل اختلالات شناختی و اعصاب و روان مانند خلق و خو، اضطراب و بی تفاوتی می‌باشد [۲-۵]. در این بیماری اجسام لوئی (lewy body) در داخل سیتوپلاسم سلولهای عصبی آسیب دیده وجود دارد [۳-۵]. سن مهمترین فاکتور در این بیماری می‌باشد [۶]. به نظر می‌رسد علت‌های زیادی برای بیماری پارکینسون وجود دارد. پاتوژن‌های این بیماری مربوط به استرس اکسیداتیو، اختلال عملکرد میتوکندریایی و تجمع پروتئین است که همگی به طور محکم با اتوفازی مرتبط هستند [۱۵]. علت دقیق بیماری پارکینسون ناشناخته باقی مانده است و روشهای درمانی تنها موجب تسکین علایم می‌شوند و منشأ اصلی بیماری را هدف قرار نمی‌دهند [۶]. این بیماری معمولاً با داروی levodopa یا سایر آگونیست‌های دوپامین که جایگزینی برای دوپامین هستند کنترل می‌شود اما استفاده طولانی از levodopa موجب دیس کینزی (dyskinesia) شده و تاثیر آن را محدود کرده است بنابراین تلاش‌های زیادی در استفاده از داروهای کمکی به همراه levodopa صورت گرفته است. در ۱۵ سال گذشته تحریک الکتریکی مغز (deep brain stimulation) باعث ایجاد یک استاندارد طلایی در درمان این بیماری شده است [۲۷]. اگرچه اکثر موارد بیماری</p>

پارکینسون موردی هستند اما حدود ۲۰-۱۰ درصد موارد علت ژنتیکی دارند. پیشرفتهای قابل توجهی در علل ژنتیکی بیماری پارکینسون در طول دهه ی گذشته منجر به تشخیص تعدادی از ژنهای مهم مرتبط با بیماری پارکینسون شده است و بسیاری از این ژنها مانند **Parkin** و **PINK1** و غیره تا کنون شناخته شده اند. فهم مکانیسم های مولکولی این بیماری برای یافتن راه کار های درمانی جدید بسیار مهم است [۵۸]. همانطور که گفته شد از جمله علل پارکینسون که مربوط به استرس اکسیداتیو، اختلال عمل میتوکندری و تجمع پروتئین هستند، همگی با اتوفاژی در ارتباط اند. اتوفاژی اتوفاژی یک فرایند هومئوستازی حفاظتی برای سلول و ضروری برای از بین بردن محتویات سیتوپلاسمی است. مطالعات نشان داده است که تنظیم دقیق اتوفاژی در سلول برای بقای نورونی ضروری و فقدان تنظیم آن منجر به تخریب نورون می شود [۹ و ۱۰ و ۱۵]. تاکنون بسیاری از ژنهای مرتبط با اتوفاژی شناخته شده اند و جهش در برخی از آنها با بیماری پارکینسون در ارتباط است. به عنوان یک مکانیسم حفاظتی اولیه که هومئوستاز غذایی و انرژی در پاسخ به استرس را حفظ میکند، عدم تنظیم اتوفاژی باعث تجمع پروتئینهای غیر عادی و آسیب ارگانل ها می شود که در بیماری های نورودژنراتیو دیده می شود. از آنجا که عمل میتوکندری در تعدادی از مدل های بیماری پارکینسون به خطر می افتد، نقص در کنترل کیفیت میتوکندری ممکن است یک نقش حیاتی در پاتوژنز بیماری پارکینسون داشته باشد. مطالعات نشان داده است که حذف انتخابی میتوکندری به ویژه میتوکندری های آسیب دیده، بخشی از یک مسیر هومئوستازی مهم برای کنترل کیفیت ارگانل است و میتوفاژی (اتوفاژی میتوکندری) یک نقش حیاتی در تجزیه میتوکندری بازی می کند و در نتیجه ممکن است برای حفظ نورونهای دوپامینرژیک سودمند باشد. از طرفی در بسیاری از بیماری های نورودژنراتیو از جمله بیماری پارکینسون، تجمع پروتئینی مشخص به عنوان پاتولوژی سلولی دیده شده است و اتوفاژی یکی از سیستم های پروتئولیتیک بزرگ است که هومئوستاز پروتئین سلولی را حفظ می کند. پس اتوفاژی برای حداقل کردن تجمع پروتئینهای غیر عادی و آسان کردن تجزیه ارگانل های آسیب دیده مهم است. کشف عوامل درمانی که فعالیت اتوفاژی را به میزان درست زیاد کنند یا مستقیماً هومئوستاز میتوکندری را حفظ کنند می تواند بالقوه از دست رفتن نورونی را کاهش و سرعت پیشرفت بیماری را کم کند [۱]. از طرفی تعدادی از ژنهای اتوفاژی مرتبط با بیماری پارکینسون نیز شناخته شده اند و این ژنها با میتوفاژی هم در ارتباط هستند، مانند **Parkin** و **PINK1** که با هم عمل می کنند. جهش در این ژنها با بروز بیماری پارکینسون در ارتباط است [۱۱ و ۱۲]. شناسایی ژنهای اتوفاژی در بررسی وجود یا عدم وجود رابطه این ژنها با بروز بیماری پارکینسون مهم است. از جمله این ژن های اتوفاژی **foxo3a** می باشد که ارتباط آن با بیماری پارکینسون بهتر است بررسی شود. **foxo3a** یکی از اعضای خانواده **foxo forkhead boxo** است و به دلیل نقش منحصر به فردش در تکثیر سلول، آپوپتوز، متابولیسم، کنترل استرس و عمر طولانی سلول بسیار زیادی بررسی شده است [۱۱ و ۱۲]. تغییرات **foxo3a** باعث انواع سرطانها، فیبروز و سایر بیماری ها می شود. مطالعات قبلی نشان داده اند که **foxo3a** می تواند به عنوان سرکوب گر تومور با تنظیم بیان ژنهای درگیر در آپوپتوز، توقف چرخه سلولی، مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو و اتوفاژی عمل کند. **foxo3a** اتوفاژی را برای حفاظت سلول ها از استرس های محیطی افزایش می دهد و بنابراین یک نقش حفاظتی مهم در حفظ هومئوستاز سلولی دارد [۱۱]. ممکن است ژن **foxo3a** و جهش های آن با بیماری پارکینسون در ارتباط باشد. در مخمر ژنهای اتوفاژی **ATG14** و **VPS38** باعث فسفریلاسیون لیپیدی می شود [۱۳]. چند مطالعه نشان داده اند که **Beclin 1** در بسیاری از بیماریها از جمله در تخریبات نورونی نقش دارد [۱۴-۱۶]. **FIP200** نیز یک پروتئین بر هم کنش کننده با **ULK1** است که برای تشکیل اتوفاگوزوم در سلولهای پستانداران نیاز

است. اثبات شده است که ULK^{۱,۲} برای اتوفاژی نیاز می باشد [۱۷]. LC^۳ نیز یکی دیگر از ژنهای اتوفاژی است که در غشاهای اتوفاگوزوم متمرکز می شود و مارکر اتوفاژی محسوب می شود [۱۸]. ATG^{۱۰۱} نیز یک پروتئین اتصال برای ATG^{۱۳} است که یک جزئی از ULK^۱ سرین ترئونین کیناز است که برای اتوفاژی نیاز است. کمپلکس ULK^۱ شامل ATG^{۱۳} و FIP^{۲۰۰} است و برای القای اتوفاژی نیاز است. برهم کنش بین ATG^{۱۰۱} و ATG^{۱۳} می تواند برای پایداری و فسفریلاسیون پایه ATG^{۱۳} و ULK^۱ مهم باشد [۱۹]. Beclin^۱ یک بازیگر مهم در اتوفاژی است و AMBRA^۱ یک پروتئین برهم کنش کننده با Beclin^۱ است که تنظیم کننده اتوفاژی وابسته به Beclin^۱ است. AMBRA^۱ به فاکتور آنتی آپوپتوزی میتوکندریایی BCL-۲ وصل میشود و این برهم کنش به دنبال القای اتوفاژی قطع می شود. بعد از القای اتوفاژی، AMBRA^۱ به Beclin^۱ وصل می شود. (BCL-۲ مهار گر Beclin^۱ است) [۲۰]. GADPH. نقشی در حفظ بقای سلول با بالا بردن گلیکولیز و بهبود اتوفاژی با افزایش بیان ATG^{۱۲} بازی می کند [۲۱]. . سرکوب گر تومور P^{۵۳} با ژنوتوکسیک ها و استرس اکسیداتیو فعال می شود و تکثیر سلولی و رشد را از طریق القای ژنهای هدف خاص مهار می کند که این ژنهای هدف Sestrin^۱ و Sestrin^۲ هستند [۲۲]. پس این دو ژن هدف نیز به گونه ای با اتوفاژی مرتبط هستند. ترهالوز ترهالوز توانایی جلوگیری از تخریب نرونی را در مدل های موشی مبتلا به بیماری پارکینسون دارد و مانع از شکل گیری خوشه های سلول های اندوتلیال و سایر تغییرات عصبی-عروقی در موش ها استفاده می شود [۲۳]. ترهالوز یک دی ساکارید غیرسمی است که می توان با خیال راحت به صورت خوراکی تجویز کرد [۲۴]. ترهالوز در طبیعت بیش از ۸۰ گونه دارد که در باکتری ها، مخمرها، قارچ ها، حشرات، بی مهرگان و برخی گیاهان وجود دارد [۲۵]. این ماده غذایی سالم توسط سازمان غذا و دارو اروپا تایید شده است [۲۶]. ترهالوز یک مولکول همه کاره در حفاظت است و افزایش سطح آن منجر به افزایش مقاومت در برابر تنش ها و استرس و پاسخ به کم آبی و مقاومت در برابر سرما می شود [۲۷]. برخی از این داروهای در دسترس علائم روانی، رفتاری و حرکتی بیماری پارکینسون را کاهش می دهد اما هنوز روش پیشگیری و درمان موثری برای این بیماری ها وجود ندارد. اما با توجه به نقش بازسازی سلول های عصبی، ترهالوز می تواند برای بهبود آسیب های التهابی سیستم عصبی مورد استفاده قرار بگیرد [۲۸]. تجمع a synuclein یکی از دلایل پاتوژن بیماری پارکینسون می باشد. مصرف ترهالوز به عنوان مکمل در بیماری پارکینسون می تواند منجر به کاهش تجمع AAV-a synuclein در جسم سیاه می شود [۲۹]. همچنین مصرف این مکمل منجر به کاهش سرعت روند بیماری و بهبود آسیب های ساختاری از طریق کاهش از دست دادن TH، آسیب های عروقی و SNC می شود. ترهالوز از آسیب ها و واکنش های التهابی برانگیخته شده توسط اندوتوکسین لیپوپلی ساکارید جلوگیری کرده و منجر به بهبود و کاهش فشارخون شریانی نیز می شود [۲۳]. این مکمل از طریق ثبات پروتئینی عدم تعادل موجود بین سنتز و تخریب پروتئین را که یکی از عوامل پاتوژن بیماری پارکینسون است در نرون ها کاهش می دهد [۲۶]. ترهالوز از طریق افزایش جریان دوپامین، بقا نرونی و کاهش تجمع a synuclein اثر موثری بر اختلالات رفتاری ناشی از بیماری پارکینسون گذاشته و به عنوان یک استراتژی نوین در درمان شناخته شود [۲۶]. براساس مطالعات کوپینگ اچ و همکاران (۲۰۱۵) که بررسی تاثیر درمان ترهالوز بر رفتار حرکتی و تجمع synuclein-a در مدل های حیوانی مبتلا به پارکینسون پرداختند، مصرف ترهالوز در مدل حیوانی منجر به کاهش اختلالات رفتاری و کاهش میزان آسیب دیدگی مغزی می شود. یافته ها حاکی از آن است که تجمع نابه جا a synuclein در نرون های دوپامین اهمیت عمده ای در پاتوژن بیماری پارکینسون دارد. هدف از این مطالعه بررسی توانایی ترهالوز

در تقویت اتوفاژی در غلظت‌های ۲ و ۵ درصد در آب آشامیدنی برای محافظت در برابر تجمع α -synuclein A β T که واسطه انحطاط دوپامین است می‌باشد. و طبق یافته‌های این تحقیق مصرف ترهالوز ۵ درصد در آب آشامیدنی بر اختلالات رفتاری و عصب شیمیایی بی‌اثر بوده و تحقیقات بیشتر نیز نشان‌دهنده این است که مکمل ترهالوز می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی نوین درمانی برای پیشگیری و کاهش تجمع α -synuclein در درمان بیماری پارکینسون مورد استفاده قرار گیرد [۲۶]. براساس مطالعات شری-آ فرگوسن و همکاران (۲۰۱۵)، مصرف ۸ هفته مکمل ترهالوز به صورت یک درصد خوراکی منجر به بهبود هماهنگی حرکتی، قدرت گرفتن دست‌ها و رفتار اکتشافی در رت‌های نر مبتلا به اختلال پارکینسون می‌شود [۲۷]. براساس مطالعات سامیت سرکار و همکاران (۲۰۱۴)، مصرف ترهالوز منجر به جلوگیری از انحطاط سلول‌های عصبی دوپامین در مدل موش مبتلا به پارکینسون شده است. در این مطالعه به بررسی تاثیر ۸ هفته مصرف پروسینید و ترهالوز بر روی رت‌های نر مبتلا به بیماری پارکینسون تحت مدل MPTP پرداخته و پس از رنگ‌آمیزی بافتی مشاهده شد که میزان هیدروکسیلاز تیروزین و دوپامین در CPU و SNC به میزان قابل توجهی کاهش یافته‌است، و کاهش در سطح دوپامین CPU توسط ترهالوز مسدود می‌گردد. این مطالعه حاکی از آن است که مصرف ترهالوز می‌تواند منجر به تنظیم محافظت نرونی در مدل MPTP شود و نشان می‌دهد که ترهالوز پتانسیل کاهش سرعت و بهبود را در بیماری پارکینسون افزایش می‌دهد [۲۳]. براساس مطالعات انزو امانوئل (۲۰۱۴)، مصرف ترهالوز در مدل حیوانی منجر به کاهش تجمع و مرگ سلولی در بیماری پارکینسون می‌شود. در این مطالعه به بررسی دوزهای مصرف مختلف در حیوان و انسان اشاره شده و همچنین به بیان دوز مصرفی مناسب و دوز کشنده پرداخته است. طبق یافته‌های این تحقیق ترهالوز به‌عنوان یک مکمل غیرسمی می‌تواند نقش موثری در کاهش تجمع پروتئینی و حفظ زنجیره‌های پلی‌پپتیدی داشته و مقاومت بدن را در شرایط استرس اکسیداتیو و مهار رادیکال‌های آزاد افزایش دهد [۲۶]. شناسایی عوامل موثر بر بیماری پارکینسون ما را قادر به پیشگیری و جلوگیری از آسیب بیشتر می‌کند و استفاده از مدل حیوانی به ما کمک می‌کند بصورت چندجانبه و دقیق‌تر مطالعه را کنترل کنیم. از این‌رو هدف پژوهشگر از این مطالعه ارزیابی روش‌های پیش‌درمانی داروی ترهالوز و بر بهبود تعادل و رفتار حرکتی رت‌های مبتلا به پارکینسون است در بیماری پارکینسون به دلیل استرس اکسیداتیو ارگانل‌های داخل سیتو پلاسم مانند میتوکندری تخریب می‌شود. روندی طبیعی در سلول‌ها پس از تخریب ارگانل‌ها به نام اتوفاژی رخ می‌دهد که در طی آن ارگانل‌های تخریب شده توسط خود سلول فاگوسیتیه یا خود خوری می‌شوند. در این تحقیق هدف بررسی ژن‌های مسیر اتوفاژی در بیماری پارکینسون است. آیا در بیماری پارکینسون سلول‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه قادر به اتوفاژی ارگانل‌های معیوب خود هستند؟ بنابراین بیان ژن‌های موثر در اتوفاژی در بیماری پارکینسون در موش مدل ۶-هیدروکسی دوپامین هیدروکلراید (۶-OHDA) ارزیابی می‌شود. پس از تزریق نوروتوکسین ۶-OHDA و ایجاد مدل بیماری پارکینسون در موشهای صحرایی، ژن‌های مسیر اتوفاژی مانند $foxo3a$, $Atg101$, $Atg13$, $ATG14L$, $LC3$ بررسی می‌شود. به همین منظور تعیین میزان بیان ژن $foxo3a$ به وسیله $real time$ PCR ارزیابی می‌گردد.



- Daniel J. Klionsky. 2012. The Role of Autophagy in Parkinson's Disease. doi: 10.1101/cshperspect.a009357
- Mylène M, Sébastien M, Sophie CC, Jérôme L, Jevita P, Pierre V, .2 Nicolaie G, Hervé V, Gérard B, Elisabeth S, Raymund S. Neurosurgery in Parkinson's disease: Social adjustment, quality of life and coping .strategies. Neural Regen Res. 2013 Oct 25;8(30):2856-67
- zeigler, H.D. and Alheid, G.F. basal ganglia in: paxinos, G, the rat nervous. 3 system, 2nd edition, academic press, (1996) 579-614
- ebadi, M. Srinivasan, S.K and Baxi, M.D. oxidative stress and antioxidant. 4 therapy in parkinsons disease, prog. neurobiol. 48(1996) 1-19
- Fabio Blandini¹ and Marie-Therese Armentero. 2012. Animal models of. 5 Parkinson's disease. doi: 10.1111/j.1742-4658.2012.08491.x
- Sudipta Chakraborty, Julia Bornhorst, Thuy T. Nguyen and Michael. 6 Aschner. 2013. Oxidative Stress Mechanisms Underlying Parkinson's .doi: 10.3390/ijms141123103
- Sandy Stayte and Bryce Vissel. 2014. Advances in non dopaminergic. 7 treatments for Parkinson's disease. doi: 10.3389/fnins.2014.00113
- Jordi Clarim^{n*} and Jaime Kulisevsky. Parkinson's Disease: From. 8 Genetics to Clinical Practice. Current Genomics, 2013, 14, 560-567
- Félix J. Jiménez-Jiménez, Hortensia Alonso-Navarro, Elena Garc^a-Mart[?]. 9 nand
- José A. G. Ag[?]ndez. Cerebrospinal fluid biochemical studies in patients with Parkinson's disease : toward a potential search for biomarkers for this disease. doi: 10.3389/fncel.2014.00369
- Hong-Min Ni, Kuo Du, Min You, y and Wen-Xing Ding. Critical Role of . 10 .FoxO3a in Alcohol-Induced Autophagy and Hepatotoxicity .ajpath. 2013
- Richard Seonghun Nho, Polla Hergert. FoxO3a and disease. 11 progression. World J Biol Chem 2014 August 26; 5(3): 346-354
- Natalia Casagrande Brabo, Thais Soares C. Minett, Karin Zazo. 12 Ortiz. 2014. Fluency in Parkinson's disease: disease duration, cognitive status and age. DOI: 10.1590/0004-282X20140018
- Noboru Mizushima. Autophagy: process and function. Genes Dev. 2007. 13 21: 2861-2873. doi: 10.1101/gad.1599207
- Karl Grenier , Gian-Luca McLelland and Edward A. Fon. Parkin- and. 14 PINK1-dependent mitophagy in neurons: will the real pathway please stand up ? 2013 doi: 10.3389/fneur.2013.00100
- Qiming Sun, Weiliang Fan, and Qing Zhong. Regulation of Beclin 1 in. 15 autophagy. Autophagy. 2009 July ; 5(5): 713–716
- Sarah F. Funderburk. Qing Jun Wang, and Zhenyu Yue. Beclin 1-. 16 VPS34 complex – At the Crossroads of Autophagy and Beyond. Trends Cell Biol. 2010 June ; 20(6): 355–362. doi: 10.1016/j.tcb.2010.03.002
- Taichi Hara , Akito Takamura , Chieko Kishi , Shun-ichiro Iemura , . 17 Tohru Natsume , Jun-Lin Guan , and Noboru Mizushima . FIP200, a ULK-interacting protein, is required for autophagosome formation in mammalian cells. 2008. J. Cell Biol. Vol. 181 No. 3 497–510
- Yukiko Kabeya, Noboru Mizushima, Akitsugu Yamamoto, Satsuki. 18 , Oshitani-Okamoto
- Yoshinori Ohsumi and Tamotsu Yoshimori. LC3, GABARAP and GATE16 localize to autophagosomal membrane depending on form-II formation.

2004.doi:10.1242/jcs.01131

- Qianqian Liang, Peiguo Yang, E Tian, Jinghua Han and Hong.19
Zhang.The C. elegans ATG101 homolog EPG-9 directly interacts with
EPG-1/Atg13 and is essential for
autophagy.2012.http://dx.doi.org/10.4161/auto.21163
- Flavie Strappazzon, Matteo Vietri-Rudan, Silvia Campello, Francesca.20
Nazio, Fulvio Florenzano, Gian Maria Fimia, Mauro Piacentini, Beth
Levine and Francesco Cecconi.Mitochondrial BCL-2 inhibits AMBRA1-
induced autophagy.The EMBO Journal (2011) 30, 1195–1208
- Wong P.S, Tan B.X. Leong S.M. and Lim T.M.Autophagy and GAPDH.21
Increase in the Etiology of Acute Myeloid Leukemia With Nucleophosmin
.Mutation
- Budanov AV, Karin M. p53 target genes sestrin1 and sestrin2 connect.22
genotoxic stress and mTOR signaling. Cell. 2008 Aug 8;134(3):451-60.
.doi: 10.1016/j.cell.2008.06.028. Erratum in: Cell. 2009 Jan 23;136(2):378
- Sarkar S, Chigurupati S, Raymick J, Mann D, Bowyer JF, Schmitt T, et .23
al. Neuroprotective effect of the chemical chaperone, trehalose in a
chronic MPTP-induced Parkinson's disease mouse model.
.Neurotoxicology. 2014;44:250-62
- He Q, Wang Y, Lin W, Zhang Q, Zhao J, Liu F-T, et al. Trehalose .24
Alleviates PC12 Neuronal Death Mediated by Lipopolysaccharide-
Stimulated BV-2 Cells via Inhibiting Nuclear Transcription Factor NF-?B
.and AP-1 Activation. Neurotoxicity research. 2014;26(4):430-9
- Emanuele E. Can trehalose prevent neurodegeneration? Insights from .25
.experimental studies. Current drug targets. 2014;15(5):551-7
- He Q, Koprich JB, Wang Y, Yu W-b, Xiao B-g, Brotchie JM, et al. .26
Treatment with trehalose prevents behavioral and neurochemical deficits
produced in an AAV ?-synuclein rat model of Parkinson's disease.
.Molecular neurobiology. 2016;53(4):2258-68
- Ferguson SA, Law CD, Sarkar S. Chronic MPTP treatment produces .27
hyperactivity in male mice which is not alleviated by concurrent trehalose
.treatment. Behavioural brain research. 2015;292:68-78
-